

19.07.00

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 12 SEP 2000

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 3月10日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-066659

出 願 人

Applicant (s):

株式会社ヤクルト本社

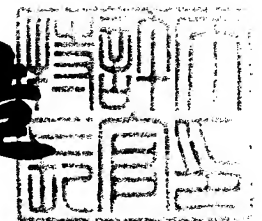
F.U.U.

PRIORITY
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 8月25日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2000-3066639

【書類名】 特許願
 【整理番号】 P01041203
 【あて先】 特許庁長官殿
 【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト
 本社内

【氏名】 吉田 康人

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト
 本社内

【氏名】 澤田 治司

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト
 本社内

【氏名】 和田 康江

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト
 本社内

【氏名】 大石 憲司

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト
 本社内

【氏名】 森 稚恵

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト
 本社内

【氏名】 伊藤 雅彦

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号 株式会社ヤクルト

本社内

【氏名】 渡辺 常一

【特許出願人】

【識別番号】 000006884

【氏名又は名称】 株式会社ヤクルト本社

【代理人】

【識別番号】 100068700

【弁理士】

【氏名又は名称】 有賀 三幸

【選任した代理人】

【識別番号】 100077562

【弁理士】

【氏名又は名称】 高野 登志雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100096736

【弁理士】

【氏名又は名称】 中嶋 俊夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100101317

【弁理士】

【氏名又は名称】 的場 ひろみ

【選任した代理人】

【識別番号】 100111028

【弁理士】

【氏名又は名称】 山本 博人

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011752

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 2次胆汁酸産生抑制剤及び飲食品

【特許請求の範囲】

【請求項1】 酵母を有効成分とする2次胆汁酸産生抑制剤。

【請求項2】 酵母がイサチェンキア属、クルイベロマイセス属、ハンセニアスポラ属、サッカロミセス属、ヒポピチア属、キャンジダ属、トルラスポラ属、ピチア属及びチゴサッカロマイセス属から選ばれる1種又は2種以上の酵母であることを特徴とする請求項1記載の2次胆汁酸産生抑制剤。

【請求項3】 酵母がイサチェンキア・オリエンタリス、クルイベロマイセス・マルキシアナス、クルイベロマイセス・ラクチス、クルイベロマイセス・サーモトレランス、ハンセニアスポラ・ウヴァラム、サッカロミセス・セレビスエ、サッカロミセス・ダイレンシス、サッカロミセス・エキシグース、サッカロミセス・ユニスポラス、サッカロミセス・バヤナス、ヒポピチア・ブルトニ、キャンジダ・ケフィア、キャンジダ・エチエルシー、キャンジダ・ゼイラノイデス、キャンジダ・ソラニ、キャンジダ・マルトーサ、キャンジダ・トロピカリス、キャンジダ・シリンドラシエ、キャンジダ・ユチリス、トルラスポラ・デルブルエッキー、ピチア・アノマラ、ピチア・ホルスチー、パキチコスポラ・トランスバーレンシス及びチゴサッカロマイセス・ロキシーから選ばれる1種又は2種以上の酵母であることを特徴とする請求項1記載の2次胆汁酸産生抑制剤。

【請求項4】 請求項1～3いずれか1項記載の酵母を含有してなる2次胆汁酸産生抑制用飲食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆石症等の予防及び治療に有用な2次胆汁酸産生抑制剤及びその飲食品への利用に関する。

【0002】

【従来の技術】

ヒトの肝臓においてコール酸及びケノデオキシコール酸等（1次胆汁酸）がコ

レステロールから合成され、グリシン又はタウリンと抱合しグリシン又はタウリン抱合型胆汁酸として胆管を通過して消化管に分泌される。胆汁酸は、その界面活性作用によって飲食品中の脂質を乳化分散させ、膵液の酵素・リパーゼによる分解と吸収を促進し、回腸から能動的に再吸収される。再吸収された胆汁酸は、門脈を通過して肝臓に戻り、再度、消化管に分泌され腸肝循環を構成し、この循環を繰り返す。

【0003】

回腸からの吸収を免れた胆汁酸は、腸内細菌によって脱抱合や7 α -脱水酸化、酸化、還元、エピマー化等の修飾を受けて2次胆汁酸へと変換される。この過程で生じる主要な2次胆汁酸は、デオキシコール酸とリトコール酸であり、それぞれ1次胆汁酸であるコール酸とケノデオキシコール酸の7 α -脱水酸化反応によって生じる。2次胆汁酸の一部は、大腸から受動的に吸収されて肝臓に移行し1次胆汁酸と同様に腸肝循環を繰り返すが、残りの胆汁酸は糞便中へと排泄される。

【0004】

近年、大腸管腔内の腸内細菌によって産生されるデオキシコール酸やリトコール酸などの2次胆汁酸は、大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆管癌などの発症に深く関与していることが明らかになっている。一般に、発癌の過程は、化学発癌剤や放射線、ウイルスなどによって遺伝子に突然変異が生じるイニシエーションと、その後、プロモーターに長期間、暴露されることによって増殖と分化に異常が生じるプロモーションの2段階から成り立つと考えられている。これまでに、デオキシコール酸やリトコール酸等の2次胆汁酸は、後者の過程においてプロモーターとして作用し、大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆管癌の発症を促進することが報告されている(Narisawa, T., et. al., J. Natl. Cancer Inst., 53, 1093-1097, 1974, Tsuda, H., et. al., Gann, 75, 871-5, 1984, Makino, T., et. al., J. Natl. Cancer Inst., 76, 967-75, 1986)。また、2次胆汁酸の発癌プロモーター活性は、1次胆汁酸に比べてはるかに強いことも示されている(Narisawa, T., et. al., J. Natl. Cancer Inst., 53, 1093-1097, 1974, Reddy, BS., et. al., Cancer Res., 37, 3238-3242, 1977)。さらに、最近、デオキシコール酸に関し

ては、癌以外にも胆石症の発症に関係し得ることが示されている (Marcus, SN., Heaton, KW., Gut, 29, 522-533, 1988)。

【0005】

このように、大腸管腔内において腸内細菌によって産生されるデオキシコール酸やリトコール酸などの2次胆汁酸は、強力な発癌プロモーター活性を有すると同時に、胆石症の原因にもなり得ることから、2次胆汁酸の産生を抑制することによって、大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆管癌、胆石症などの疾患を予防あるいは治療することが可能である。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

これまでに、ペニシリン系の抗生物質であるアンピシリン (Low-Beer, TS., Nutter, S., Lancet, 2(8099), 1063-1065, 1978)、 $3\alpha, 12\beta$ -ジヒドロキシ- 5β -コラン- $24-N$ -メチルアミン (Roda, A., et. al., J. Pharm. Sci., 81, 237-240, 1992)、オリゴ糖の一種であるラクツロース (Magengast, F M., Eur. J. Clin. Invest., 18, 56-61, 1988)あるいは小麦糠 (Lampe, JW., et. al., Gut, 34, 531-536, 1993)については、効果は弱いものの2次胆汁酸の産生を抑制することが報告されている。

【0007】

アンピシリン及び $3\alpha, 12\beta$ -ジヒドロキシ- 5β -コラン- $24-N$ -メチルアミンは、大腸管腔内において 7α -脱水酸化反応を触媒する細菌を排除することによって2次胆汁酸の産生を抑制するが、長期間服用した際には耐性菌の出現や副作用の発現が問題となる。また、抗生物質を用いて、2次胆汁酸の産生に関わる細菌のみを特異的に排除することは事実上不可能であり、乳酸菌やビフィズス菌などのヒトの健康維持に重要な役割を果たしている腸内細菌も同時に排除してしまうといった重大な問題を生ずる欠点がある。

【0008】

一方、ラクツロースや小麦糠は、主に大腸管腔内のpHを低下させることによって至適pHが中性付近である 7α -脱水酸化酵素の活性を抑制し、2次胆汁酸の産生量を低下させると考えられている。しかし、これらの物質は、有効性の面で

未だ十分ではなく、疾病の予防及び治療に寄与し得る程の効果を示していない。

【 0 0 0 9 】

従って、本発明は、大腸癌、肝癌、脾臓癌、胆管癌、胆石症などの疾患の予防あるいは治療に有用な、有効性及び安全性の優れた 2 次胆汁酸産生抑制剤を提供するものであり、また、それを利用した飲食品を提供することにある。

【 0 0 1 0 】

【課題を解決するための手段】

斯かる実情に鑑み本発明者は、鋭意研究を行った結果、酵母が 1 次胆汁酸の 2 次胆汁酸への変換を抑制する作用を有することを見出し、本発明を完成した。

【 0 0 1 1 】

すなわち、本発明は、酵母を有効成分とする 2 次胆汁酸産生抑制剤及びこれを含有する飲食品を提供するものである。

【 0 0 1 2 】

【発明の実施の形態】

本発明において酵母には、酵母を培養して得られる生菌体、加熱菌体及びそれらの構成物が含まれる。

【 0 0 1 3 】

本発明で使用する酵母が、コール酸等の 7α -水酸基を脱離する反応を阻害し、2 次胆汁酸であるデオキシコール酸等の生成を阻害するということは今迄報告されていない。本発明は、酵母の 1 次胆汁酸の 2 次胆汁酸への変換を抑制阻害する作用を利用したもので、特にコール酸、タウロコール酸、グリココール酸、ケノデオキシコール酸等の 1 次胆汁酸吸着能、あるいは酢酸、プロピオン酸、酪酸等の短鎖脂肪酸の腸内濃度上昇能に優れた酵母は、 7α -水酸基脱離反応を阻害する効果が優れ好ましい。

【 0 0 1 4 】

酵母のうち、好ましいものとしてはイサチェンキア属、クルイペロマイセス属、ハンセニアスポラ属、サッカロミセス属、ヒポピチア属、キャンジダ属、トラスポラ属、ピチア属及びチゴサッカロマイセス属に属する酵母が挙げられ、これらは 1 種又は 2 種以上を混合して用いることができる。

【0015】

具体的には、イサチェンキア・オリエンタリス、クルイベロマイセス・マルキシアナス、クルイベロマイセス・ラクチス、クルイベロマイセス・サーモトレランス、ハンセニアスポラ・ウヴァラム、サッカロミセス・セレビスエ、サッカロミセス・ダイレンシス、サッカロミセス・エキシグース、サッカロミセス・ユニスポラス、サッカロミセス・バヤナス、ヒポピチア・ブルトニ、キャンジダ・ケフィア、キャンジダ・エチエルシー、キャンジダ・ゼイラノイデス、キャンジダ・ソラニ、キャンジダ・マルトーサ、キャンジダ・トロピカリス、キャンジダ・シリンドラシエ、キャンジダ・ユチリス、トルラスボラ・デルブルエッキー、ピチア・アノマラ、ピチア・ホルスチー及びチゴサッカロマイセス・ロキシーが好ましいものとして挙げられ、更にこれらのうち次の酵母が最適である。

【0016】

イサチェンキア オリエンタリス (Issatchenkia orientalis) Y I T 8 2 6 6 (生命工学工業技術研究所菌寄託第17481号)、クルイベロマイセス マルキシアナス (Kluyveromyces marxianus) Y I T 8 2 9 2 (生命工学工業技術研究所菌寄託第17483号)、クルイベロマイセス ラクチス (Kluyveromyces lactis) Y I T 8 2 6 3 (生命工学工業技術研究所菌寄託第17482号)、クルイベロマイセス サーモトレランス (Kluyveromyces thermotolerans) Y I T 8 2 9 4 (ATCC 20309)、ハンセニアスポラ ウヴァラム (Hansenia spora uvarum) Y I T 8 1 6 4 (生命工学工業技術研究所菌寄託第17478号)、サッカロミセス セレビスエ (Saccharomyces cerevisiae) Y I T 8 1 1 6 (ATCC 48554)、サッカロミセス ダイレンシス (Saccharomyces dairensis) Y I T 8 1 9 1 (CBS 3007)、サッカロミセス エキシグース (Saccharomyces exiguus) Y I T 8 1 0 9 (CBS 3019)、サッカロミセス ユニスポラス (Saccharomyces unisporus) Y I T 8 2 2 6 (生命工学工業技術研究所菌寄託第16151号)、サッカロミセス バヤナス (Saccharomyces bayanus) Y I T 8 1 2 8 (CBS 380)、ヒポピチア ブルトニ (Hyphopichia burtonii) Y I T 8 2 9 9 (CBS 2352)、キャンジダ ケフィア (Candida kefyr) Y I T 8 2 3 7 (生命工学工業技術研究所菌寄託第1

7480号)、キャンジダ エチエルシー (Candida etchellsii) YIT8278 (ATCC 60119)、キャンジダ ゼイラノイデス (Candida zeylanoides) YIT8018 (IFO 0719)、キャンジダ ソラニ (Candida solani) YIT8023 (CBS 1908)、キャンジダ マルトーサ (Candida maltosa) YIT8283 (ATCC 28140)、キャンジダ トロピカリス (Candida tropicalis) YIT8286 (CBS 94)、キャンジダ シリンドラシエ (Candida cylindracea) YIT8276 (ATCC 14830)、キャンジダ ユチリス (Candida utilis) YIT8204 (ATCC 9950)、トルラスポラ デルブルエッキー (Torulaspora delbrueckii) YIT8313 (JCM 2204) 及び YIT8133 (IFO 1172)、ピチア アノマラ (Pichia anomala) YIT8298 (JCM 3587) 及び YIT8297 (JCM 3583)、ピチア ホルスチー (Pichia holstii) YIT8038 (ATCC 58048)、及びチゴサッカロマイセス ロキシー (Zygosaccharomyces rouxii) YIT8129 (CBS 732)。

【0017】

なお、これらの酵母は古くから食品(ワイン、チーズ)の製造に使用されており、人体に対して極めて安全な微生物である。また、これらの菌体は、数ミクロンの粒子なので、食感に影響する20ミクロン以上の粒子に比べてはるかに服用し易いという特徴を有している。上記酵母の性状として、イサチェンキア・オリエンタリス (Issatchenkia orientalis) YIT8266 (生命工学工業技術研究所菌寄託第17481号)の性状を具体的に示すと、表1の通りであって、「ザ イースト (The yeast)、第3版 N. J. W. Kreger-Van Rij, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 1984」に記載の同種酵母の性状と同様である。

【0018】

【表1】

イサチェンキア オリエンタリス YIT8266 の性状

発酵性		メリビオース	-	クレアチン	-
D-グルコース	+	ラクトース	+-	クレアチニン	-
D-ガラクトース	-	ラフィノース	-	グルコサミン	-
マルトース	-	メレチトース	-	イミダゾール	-
Me-D-グルコース	-	イヌリン	-	W/O ビタミン	+
シュクロース	-	澱粉	-	W/O ミオイノシトール	+
α , α -トレハロース	-	グリセロール	+	W/O パントテン酸	+
メリビオース	-	エリスリトール	-	W/O ビオチン	+
ラクトース	-	リビトール	-	W/O チアミン	+
セロビオース	-	キシリトール	-	W/O ビオチン&チアミン	+
メレチトース	-	L-アラビニトール	-	W/O ビリドキシン	+
ラフィノース	-	D-グルシトール	-	W/O ビリドキシン&チアミン	+
イヌリン	-	D-マンニトール	-	W/O ナイアシン	+
澱粉	-	ガラクシトール	-	W/O PABA	+
D-キシロース	-	ミオイノシトール	-	25℃	+
増殖性		D-グルコノ-1,5-ラクトン	-	30℃	+
D-グルコース	+	2-ケト-D-グルコネート	-	35℃	+
D-ガラクトース	+-	D-グルコネート	-	37℃	+
L-ソルボース	-	D-グルクロネート	-	40℃	+
D-グルコサミン	-	D-ガラクトツロネート	-	0.01% シクロヘキシミド	-
D-リボース	-	DL-ラクテート	+	0.1% シクロヘキシミド	-
D-キシロース	-	スクシネート	+	1% 酢酸	-
L-アラビノース	-	サイトレート	+-	50% D-グルコース	-
D-アラビノース	-	メタノール	-	60% D-グルコース	-
L-ラムノース	-	エタノール	+	他の性状	
シュクロース	+	プロパン-1,2-ジオール	-	澱粉産生	-
マルトース	-	ブタン-2,3-ジオール	-	酢酸産生	-
α , α -トレハロース	-	ナイトレート	-	尿素加水分解	-
Me-D-グルコシド	-	ナイトライト	-	ジアゾニウムブルーB反応	-
セロビオース	-	エチルアミン	+		
サリシン	-	L-リジン	+		
アルブチン	-	カダベリン	+		

【0019】

本発明で用いる酵母は、通常の方法、例えば酵母エキスやポリペプトンを含む

複合培地又は無機塩を主体とする合成培地で培養することによって製造することができる。

【0020】

このようにして得られた酵母は、培養液をそのまま使用してもよく、遠心分離、限外濾過等の手段により回収した生菌もしくはその凍結乾燥物、又は加熱処理等を施した死菌体、更にはそれらの菌体粉碎物やその水溶性画分（菌体内容物）として使用することも可能である。また、本発明に用いる酵母は、市販のものであってもよい。

【0021】

これらは、2次胆汁酸の産生を効果的に抑制するため、大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆管癌等の癌疾患や胆石症等の予防もしくは治療を目的とした医薬品又は食品に用いることができる。

【0022】

上記酵母は、常法に従って薬学的に許容される担体とともに種々の剤型に医薬組成物とすることができる。例えば、経口用固形製剤を調製する場合には、上記酵母に賦形剤、必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤等を加えた後、常法により錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等を製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されるものでよく、例えば、賦形剤としては、乳糖、白糖、ブドウ糖、デンプン、微結晶セルロース、炭酸カルシウム、カオリン、塩化ナトリウム、珪酸等を、結合剤としては、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロース、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン、リン酸カルシウム等を、崩壊剤としては乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、乳糖、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム等を、滑沢剤としては、ステアリン酸塩、ポリエチレングリコール、精製タルク、ホウ砂等を、矯味剤としては白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸等が例示できる。

【0023】

経口用液体製剤を調製する場合は、上記酵母に矯味剤、緩衝剤、安定化剤、矯臭剤等を加えて常法により内服液剤、シロップ剤、エリキシル剤等を製造することができる。この場合、矯味剤としては上記に挙げたもので良く、緩衝剤としてはクエン酸ナトリウム等が、安定化剤としてはトラガント、アラビアゴム、ゼラチン等が挙げられる。

【0024】

また、本発明の飲食品は、上記酵母を種々の飲食品に添加せしめることにより製造することができる。ここで好ましい飲食品としては、発酵乳、果汁飲料、スープ、せんべい、クッキー等が例示される。なお、飲食品には動物の飼料も含まれる。

【0025】

上記の各製剤中に配合されるべき酵母の量は、これを服用すべき患者の症状によりあるいはその剤型等により一定ではないが、一般に製剤中1～100g重量%とするのが好ましい。また、上記製剤又は飲食品の1日あたりの投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等によって異なり一概には決定できないが、酵母は乾燥菌体として通常成人1日あたり約10mg～30g、好ましくは約1～5gとすれば良く、これを1日1回又は2～4回程度に分け投与するのが好ましい。

【0026】

【実施例】

次に実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれに何ら限定されるものではない。なお、「%」は「重量%」を示す。

【0027】

酵母の調製

ポテトデキストロース寒天スラントで保存している酵母の1白金耳を、表2に示す培地100mLを含む坂口フラスコ(500mL)に植菌し、30℃で振盪培養(120spm)した。

2日後に10L発酵槽(実働容積7L)に坂口フラスコ2本分を接種して30℃にて、通気速度0.5vvm、回転速度250rpm、pH6.0(5Nの水酸化ナトリウムで自動制御)の条件下で2日間、通気攪拌培養した。

培養終了後、冷却遠心分離機を使用して菌体と上清を分けたのち、菌体を蒸留水で2度洗浄した。この洗浄菌体を2 Lの三角フラスコに入れ、蒸留水1 Lを加えた後、115℃にて10分間オートクレーブで加熱した。この加熱菌体をそのまま凍結乾燥した。

【0028】

【表2】

前培養及び本培養の培地組成

グルコース（関東化学製）	30 g
ポリペプトン（第五栄養株式会社製）	10 g
酵母エキス（第五栄養株式会社製）	5 g
リン酸1カリウム（和光純薬製）	1 g
リン酸2カリウム（和光純薬製）	2 g
硫酸マグネシウム（和光純薬製）	0.5 g
水道水	1 L
pH 6.0	

【0029】

実施例1 胆汁酸吸着能

試験方法；

コール酸（CA）、タウロコール酸（TCA）、グリココール酸（GCA）、ケイデオキシコール酸（CDCA）、又はデオキシコール酸（DCA）のナトリウム塩（シグマ社製）を、最終濃度が1 mMとなるようにpH 6.7の0.1 Mリン酸緩衝液あるいはpH 7.5の0.1 Mリン酸緩衝液に溶かした。

イサチエンキア オリエンタリス YIT 8266 の凍結乾燥菌体、100 mgを15 mLの遠心チューブに取り、そこに、上で作製した胆汁酸溶液、3.5 mLを加えて、37℃で振盪（120 rpm）した。1時間後に、酵母菌体を遠心分離（12,000 rpm、10分間）によって沈殿させて、上清を分取した。この上清中の胆汁酸を、エンザバイルII（第一化学薬品社製）で定量し、下式から、胆汁酸

吸着率を求めた。胆汁酸吸着率とは、添加した全胆汁酸に対する酵母に吸着した胆汁酸の割合（％）であり、酵母と胆汁酸の吸着の強さを示す。

【0030】

$$\text{胆汁酸吸着率（％）} = \left[\frac{\{\text{添加した胆汁酸 (nmol)} - \text{上清中の胆汁酸 (nmol)}\}}{\text{添加した胆汁酸 (nmol)}} \right] \times 100$$

【0031】

表3に胆汁酸吸着率を示す。イサチェンキア オリエンタリス YIT8266 は、コール酸、タウロコール酸、グリココール酸及びケノデオキシコール酸を吸着し、優れた1次胆汁酸吸着能を示した。また、酵母とコール酸の吸着率は、pH6.7とpH7.2の反応液においてほぼ同等の値であった。これらの結果から、酵母は大腸管腔内において1次胆汁酸と強固に結合し、腸内細菌による脱抱合や7 α -脱水酸化反応を妨害することによって2次胆汁酸の産生を阻害し得ることが示された。

また、2次胆汁酸であるデオキシコール酸とも強固に結合した。このことから、酵母は、2次胆汁酸の産生を抑制すると同時に、生じた2次胆汁酸を吸着、非動化することによって、その毒性を軽減させる作用も有する。

【0032】

【表3】

イサチェンキア オリエンタリスの胆汁酸吸着率 [%]

酵 母	CA	CA	TCA	GCA	CDCA	DCA
	pH6.7	pH7.5	pH7.5	pH7.5	pH7.5	pH7.5
イサチェンキア オリエンタリス YIT8266	40.3	40.2	29.3	43.8	68.8	73.7

【0033】

実施例2

実施例1と同方法で種々の酵母の胆汁酸吸着率を測定した結果を表4に示す。

いずれの酵母も胆汁酸、1次胆汁酸のケノデオキシコール酸及び2次胆汁酸のデオキシコール酸の良い吸着性を示した。

【 0 0 3 4 】

【表 4】

各種酵母の胆汁酸吸着率

菌 株 名	Y I T No.	胆汁酸吸着率 (%)	
		CDCA (pH7.5)	DCA (pH7.5)
クルイベロマイセス マルキシア ナス	8292	63.0	60.0
クルイベロマイセス ラクチス	8263	54.4	41.0
クルイベロマイセス サーモトレ ランス	8294	79.5	53.6
ハンセニアスポラ ウヴァラム	8164	68.0	40.3
サッカロミセス セレビスエ	8116	66.6	54.5
サッカロミセス ダイレンシス	8191	50.8	44.7
サッカロミセス エキシグース	8109	55.5	50.4
サッカロミセス ユニスボラス	8226	58.8	65.5
サッカロミセス バヤナス	8128	61.8	64.3
ヒポピチア ブルトニ	8299	51.6	35.3
キャンジダ ケフィア	8237	56.2	55.3
キャンジダ エチエルシー	8278	55.8	45.1
キャンジダ ゼイラノイデス	8018	76.1	56.0
キャンジダ ソラニ	8023	52.0	36.9
キャンジダ マルトーサ	8283	58.3	46.4
キャンジダ トロピカリス	8286	58.3	40.1
キャンジダ シリンドラシエ	8276	58.8	53.0
キャンジダ ユチリス	8204	51.6	42.2
トルラスボラ デルブルエッキー	8313	58.6	52.6
トルラスボラ デルブルエッキー	8133	64.6	49.4
ピチア アノマラ	8297	56.4	43.4
ピチア アノマラ	8298	51.6	60.9
ピチア ホルスチー	8038	58.8	54.6
チゴサッカロマイセス ロキシー	8129	48.0	39.8
セルロース (比較例)	—	4.1	3.7

【0035】

実施例3 イサチェンキア オリエンタリス YIT8266 の凍結乾燥菌体による2次胆汁酸産生抑制

予備試験

5週齢のWistar系雄ラット（日本クレア製）を、オリエンタル酵母社製F-2粉末飼料で7日間飼育した後、1群8匹ずつ各群間で体重差が出ないよう群分けし、表5の試験飼料を14日間投与した。ラットは金属製ケージで個別飼いし、飼料及び水は自由に摂取させた。

【0036】

【表5】

飼料組成 [%]		
成 分	普通食	高胆汁酸食
カゼイン	22.30	22.30
ショ糖	56.55	55.80
無機塩	4.00	4.00
ビタミン	1.00	1.00
大豆油	1.00	1.00
ラード	10.00	10.00
重酒石酸コリン	0.15	0.15
コレステロール	0.00	0.50
コール酸ナトリウム	0.00	0.25
濾紙粉末	5.00	5.00

【0037】

14日間飼育後の普通食群、高胆汁酸食群の間では、摂取量及び体重増加量には有意な差は認められなかった。

【0038】

胆汁酸量

25 mgの12～14日目の凍結乾燥糞便をスクリーキャップ付試験管（15 mL）に量り取り、0.15 μ molの内部標準物質（5- β -プレグナン-3 α , 17 α , 20 α -トリオール）と5 mLのエタノールを加えて、70℃のブロックヒーターで2時間加熱した。不溶物を遠心分離（3000 rpm、15分間）によって沈殿させた。上清は別の試験管に移して、窒素ガス送風下で乾固した。抽出物を0.5 mLのメタノールに溶かした後、0.45 μ mのフィルター（日本ミリポア社製）を通して不溶物を除いた。10 μ LのサンプルをHPLCシステム（ジャスコ社製）で以下の条件下で分離した。

【0039】

【表6】

胆汁酸の分離条件

A液:	アセトニトリル／メタノール／30 mM酢酸アンモニウム (30:30:40) 混液
B液:	アセトニトリル／メタノール／30 mM酢酸アンモニウム (20:20:60) 混液
溶出条件:	100% B液、0% A液から、直線的にグラジエントをかけて32分後に、0% B液、100% A液とした。その後、この組成で13分間溶出した。
流速:	1.0 mL／分
カラム温度:	25℃

ジャスコ社製分離カラム Bilepak-II (4.6 mm i.d. × 250 mm)

【0040】

分離カラムを通過した溶出液に、反応液（0.3 mM β -ニコチン酸アミドアデニンジヌクレオチド（ β -NAD⁺）、1 mMエチレンジアミン四酢酸及び0.05% 2-メルカプトエタノールを含む10 mMリン酸カリウム緩衝液、pH 7.8）を1.0 mL／分の流速で混合した。この混液を、3 α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼを充填した酵素カラム、Enzymepak（4.6 mm i.d. × 35 mm、ジャスコ社製）に送り、胆汁酸の脱水酸化反応に伴って生じるNADH（ β -

NAD⁺の還元型)を蛍光検出器でモニターした(励起波長345nm、発光波長470nm)。

各胆汁酸は、標準品の保持時間から同定した。また、胆汁酸の濃度は、各ピークの面積から求めた。この際、内部標準物質のピーク面積から回収率を補正した。

【0041】

測定結果を表7に示すが、コール酸を投与することによって、大腸へ到達する1次胆汁酸の量が増大し、2次胆汁酸の産生量が亢進することが明らかとなり、2次胆汁酸産生抑制剤の効果を感度良く評価できることが判明した。

【0042】

【表7】

各種胆汁酸の糞便排泄量 [$\mu\text{mol/day}$]		
	普通食	高胆汁酸食
<u>1次胆汁酸</u>		
α -ミユリコール酸	1.52 ± 0.35	$8.52 \pm 3.05^{**}$
β -ミユリコール酸	0.20 ± 0.09	$8.48 \pm 1.55^{**}$
ヒオコール酸	0.00 ± 0.00	$0.23 \pm 0.21^*$
コール酸	0.00 ± 0.00	$29.20 \pm 7.44^{**}$
ケノデオキシコール酸	0.00 ± 0.00	$0.57 \pm 0.20^{**}$
全1次胆汁酸	1.72 ± 0.40	$47.00 \pm 10.31^{**}$
<u>2次胆汁酸</u>		
デオキシコール酸	0.72 ± 0.26	$9.13 \pm 5.92^{**}$
リトコール酸	0.18 ± 0.10	$0.13 \pm 0.18^{n.s.}$
ヒオデオキシコール酸	0.01 ± 0.03	$1.06 \pm 0.54^*$
全2次胆汁酸	0.90 ± 0.35	$10.32 \pm 5.84^{**}$

(注) スチューデントt-検定

** 有意水準5%

* 有意水準1%

n.s. 有意な差なし

【0043】

イサチェンキア オリエンタリスYIT8266の凍結乾燥菌体による2次胆汁酸産生抑制

イサチェンキア オリエンタリスYIT8266の凍結乾燥菌体を高胆汁酸食に添加して14日間投与(5%混餌投与)した(表8)。尚、この際、エネルギー価が同等となるよに、カゼイン、蔗糖、脂質及びセルロース量で調整した。酵母菌体の投与は、試験期間中の体重増加量及び摂餌量にほとんど影響を与えなかった(表9)。

【0044】

【表8】

飼料組成 [%]		
成 分	高胆汁酸食	酵母添加高胆汁酸食
カゼイン	22.30	20.56
ショ糖	55.80	54.15
無機塩	4.00	4.00
ビタミン	1.00	1.00
大豆油	1.00	1.00
ラード	10.00	9.85
重酒石酸コリン	0.15	0.15
コレステロール	0.50	0.50
コール酸ナトリウム	0.25	0.25
濾紙粉末	5.00	3.55
酵母加熱乾燥菌体*	0.00	5.00

※ イサチェンキア オリエンタリスYIT8266

【0045】

【表9】

試験期間中の摂食量及び体重増加量		
	高胆汁酸食	酵母添加高胆汁酸食
摂餌量[g/14day]	236.0±8.6	227.8±21.5 ^{n.s.}
体重増加[g/14day]	95.9±4.0	93.6±11.9 ^{n.s.}

(注) スチューデントt-検定

n.s. 有意な差なし

【0046】

表 1 0 及び 1 1 に示すように、イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 を投与することによって、2 次胆汁酸の糞便排泄量は約 8 2 %、また糞中の 2 次胆汁酸濃度は約 8 4 % 低下した。この傾向は、特にデオキシコール酸とリトコール酸で顕著であった。一方、1 次胆汁酸の糞便排泄量及び糞中濃度は、当該菌体の投与によって有意に上昇した。

イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 は、1 次胆汁酸から 2 次胆汁酸への変換を強力に抑制する作用を有していた。

【0 0 4 7】

【表 1 0】

各種胆汁酸の糞便排泄量 [$\mu\text{mol/day}$]		
	高胆汁酸食	酵母添加高胆汁酸食
<u>1 次胆汁酸</u>		
α -ミユリコール酸	13.70 ± 3.40	$15.27 \pm 3.12^{\text{n.s.}}$
β -ミユリコール酸	7.32 ± 2.07	$11.60 \pm 2.48^{**}$
ヒオコール酸	0.12 ± 0.17	$0.29 \pm 0.15^{\text{n.s.}}$
コール酸	24.37 ± 5.86	$35.30 \pm 2.55^{**}$
ケノデオキシコール酸	1.10 ± 0.41	$1.34 \pm 0.27^{\text{n.s.}}$
全 1 次胆汁酸	46.60 ± 7.30	$63.80 \pm 6.81^{**}$
<u>2 次胆汁酸</u>		
デオキシコール酸	10.10 ± 6.51	$0.22 \pm 0.46^{**}$
リトコール酸	0.35 ± 0.31	$0.00 \pm 0.00^*$
ヒオデオキシコール酸	0.80 ± 0.32	$1.81 \pm 0.64^{\text{n.s.}}$
全 2 次胆汁酸	11.25 ± 6.59	$2.03 \pm 0.81^{**}$

(注) スチューデント t-検定

** 有意水準 5 %

* 有意水準 1 %

n.s. 有意な差なし

【0 0 4 8】

【表 1 1】

糞便中の胆汁酸の組成 [%]		
	高胆汁酸食	酵母添加高胆汁酸食
<u>1 次胆汁酸</u>		
α -ミユリコール酸	23.58 \pm 5.32	23.11 \pm 3.47 ^{n.s.}
β -ミユリコール酸	12.59 \pm 3.07	17.50 \pm 2.51 ^{**}
ヒオコール酸	0.19 \pm 0.27	0.43 \pm 0.22 ^{n.s.}
コール酸	42.47 \pm 11.42	53.87 \pm 3.01 [*]
ケノデオキシコール酸	1.89 \pm 0.65	2.06 \pm 0.50 ^{n.s.}
全 1 次胆汁酸	80.72 \pm 11.55	96.97 \pm 0.98 ^{**}
<u>2 次胆汁酸</u>		
デオキシコール酸	17.30 \pm 11.46	0.30 \pm 0.67 ^{**}
リトコール酸	0.59 \pm 0.53	0.00 \pm 0.00 [*]
ヒオデオキシコール酸	1.39 \pm 0.59	2.73 \pm 0.89 ^{**}
全 2 次胆汁酸	19.28 \pm 11.55	3.03 \pm 0.98 ^{**}

(注) スチューデントt-検定

** 有意水準 5 %

* 有意水準 1 %

n. s. 有意な差なし

【0 0 4 9】

イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の凍結乾燥菌体による盲腸内
p H 低下

0.5 g の 1 4 日目の盲腸内容物を 4.5 mL の精製水に懸濁し、0.5 mL の 10 % 過塩素酸水溶液を添加して 4 °C で一晚保存した。この懸濁液を遠心分離 (9,000 rpm、10 分) して上清を分取した後、0.45 μ m のフィルター (日本ミリポア社製) を通してから、HPLC 分析に供した。

短鎖脂肪酸は、東亜電波工業社製の HPLC システムを用いて以下の条件で解析した。なお、pH 緩衝溶液は、検出器の直前で溶離液に混合した。

【0 0 5 0】

【表 1 2】

短鎖脂肪酸の分析条件

カラム：	昭和電工社製のカラムKC-811 Shodex (2本)
溶出液 (流量)：	7%アセトニトリルを含む15mM過塩素酸溶液 (1mL/min)
カラム温度：	42℃
pH調整溶液 (流速)：	7%アセトニトリル、60mMトリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンを含む15mM過塩素酸溶液 (1mL/min)
検出器：	電導度検出器 (東亜電波工業社製)
セル温度：	45℃

【0 0 5 1】

【表 13】

盲腸内の pH 及び短鎖脂肪酸含量		
	高胆汁酸食	酵母添加高胆汁酸食
盲腸内 pH	6.65±0.08	6.46±0.20*
<u>短鎖脂肪酸含量[mM]</u>		
酢酸	26.6±8.4	37.5±4.0**
プロピオン酸	7.2±2.3	17.5±4.0**
酪酸	2.2±1.4	3.9±0.8*
乳酸	2.5±1.0	2.6±1.2 ^{n.s.}
コハク酸	15.5±7.3	21.8±7.4 ^{n.s.}
ギ酸	1.1±0.6	1.8±1.3 ^{n.s.}
イソ酪酸	0.7±0.6	0.4±0.4 ^{n.s.}
全短鎖脂肪酸	55.9±15.7	85.6±5.2**

(注) スチューデント t-検定

** 有意水準 5 %

* 有意水準 1 %

n. s. 有意な差なし

【0052】

その結果、高胆汁酸食群は pH 6.65、全短鎖脂肪酸量 55.9 mM であったのに対し、酵母イサチェンキア オリエンタリス YIT 8266 添加高胆汁酸食群は、pH 6.46（有意水準 5 %）、全短鎖脂肪酸量は 85.6 mM（有意水準 1 %）と盲腸内 pH の低下が見られ、大腸管腔内を酸性化し腸内細菌の 7 α -脱水酸化酵素の活性を低下させた。

【0053】

イサチェンキア オリエンタリス YIT 8266 の凍結乾燥菌体によるコレステロール代謝抑制

25 mg の 14 日目の糞便をスクリーキャップ付試験管（15 mL）に量り取り、0.1 μ mol の内部標準物質（5 β -コレスタン）と 1 N 水酸化ナトリウムを含む 90 % エタノール溶液、1 mL を加えて、80℃ のブロックヒーターで加熱し

た。1時間後に、0.5 mLの蒸留水を加え、中性ステロールを2.5 mLの石油エーテルで2回抽出した。抽出液は、7.5 mLの蒸留水で洗浄した後、硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガス送風下で乾固した。抽出した中性ステロールは、トリメチルシリル化した後、ガスクロマトグラフィーを用いて表14の条件で測定した。

【0054】

【表14】

クロマトグラフィー (GC) 分析条件

GC装置:	Yokogawa-Hewlett-Packard製、モデル5890
カラム:	SPB-1 FSでコートしたキャピラリーガラスカラム (Supelco製) 0.32mm i.d. × 30m
カラム温度:	250℃、8分→270℃、10℃/分→270℃、15分
キャリアー (流速):	He (0.8 mL/min)
インジェクター:	Split, T=230℃
検出器:	FID, T=280℃
サンプル注入量:	1 μL
分析時間:	25分

【0055】

イサチェンキア オリエンタリス YIT 8266 の投与によって、コレステロールの腸内代謝産物であるコプロスタノールやコプロスタノンの糞便中の濃度が有意に低下した (表15)。これらのコレステロールの腸内代謝産物については、大腸癌等の疾患の発症に関係していることから (Suzuki, K., et. al., Cancer Lett., 33, 307-316, 1986)、イサチェンキア オリエンタリス YIT 8266 は、コレステロール代謝産物の産生を抑制し、種々の疾病を予防、治療し得る。

【0056】

【表 15】

糞便中の中性ステロールの組成 [%]		
	高胆汁酸食	酵母添加高胆汁酸食
コプロステロール	25.7±12.5	9.2±11.9*
コプロスタノン	1.9±2.5	0.4±0.6 ^{n.s.}
コレステロール	72.3±14.2	90.5±12.4'
コプロスタノール+	27.7±14.2	9.5±12.4'
コプロスタノン		

(注) スチューデントt-検定

* 有意水準 1 %

n. s. 有意な差なし

【0057】

実施例4 イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の菌体内容物による
2次胆汁酸産生抑制

菌体内容物の調製

イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の凍結乾燥菌体を 0.1 M のリン酸緩衝液 (pH 8.5) に懸濁して、ダイノミル (シンマルエンタープライゼス社製) を用いて機械的に破碎した。この際、0.45 mm 径のガラスビーズを磨砕剤として使用し、磨砕操作は、顕微鏡観察により 95 % 以上の菌体が破碎されるまで繰り返した。菌体破碎液を 9,000 g で 15 分間遠心分離して、上清中に菌体内容物を分離した。この菌体内容物を採集し、凍結乾燥した。

【0058】

イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の菌体内容物による 2 次胆汁酸産生抑制

実施例3と同方法でイサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 から調製した菌体内容物の 2 次胆汁酸産生抑制効果を検証した。

本試験の飼料組成は、表 16 に示した。酵母菌体内容物の投与は、試験期間中の体重増加量や摂取量にほとんど影響を与えなかった。(表 17)。

【0059】

【表16】

飼料組成 (%表示)		
成 分	高胆汁酸食	菌体内容物添加高胆汁酸食
カゼイン	22.30	20.78
ショ糖	55.80	53.12
無機塩	4.00	4.00
ビタミン	1.00	1.00
大豆油	1.00	1.00
ラード	10.00	9.77
重酒石酸コリン	0.15	0.15
コレステロール	0.50	0.50
コール酸ナトリウム	0.25	0.25
濾紙粉末	5.00	4.43
酵母菌体内容物	0.00	5.00

【0060】

【表17】

試験期間中の摂食量及び体重増加量		
	高胆汁酸食	菌体内容物添加高胆汁酸食
摂餌量[g/14day]	232.8±9.9	220.7±6.5 ^{n.s.}
体重増加[g/14day]	95.9±4.0	88.4±4.5 ^{n.s.}

(注) スチューデントt-検定

n.s. 有意な差なし

【0061】

表18及び表19に示すように、イサチェンキア オリエンタリス YIT8266の菌体内容物を投与することによって、2次胆汁酸の糞便排泄量は約76%、また糞中の2次胆汁酸濃度は約70%低下した。

イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の菌体内容物は、凍結乾燥菌体と同様に、1 次胆汁酸から 2 次胆汁酸への変換を強力に抑制する作用を有していた。

【 0 0 6 2 】

【表 1 8】

各種胆汁酸の糞便排泄量 [$\mu\text{mol/day}$]		
	高胆汁酸食	菌体内容物添加高胆汁酸食
<u>1 次胆汁酸</u>		
α -ミューリコール酸	8.56 ± 1.85	$6.80 \pm 2.04^{\text{n.s.}}$
β -ミューリコール酸	6.80 ± 2.18	$8.70 \pm 3.04^{\text{n.s.}}$
ヒオコール酸	0.20 ± 0.15	$0.25 \pm 0.06^{\text{n.s.}}$
コール酸	28.96 ± 11.99	$29.99 \pm 4.77^{\text{n.s.}}$
ケノデオキシコール酸	0.44 ± 0.29	$0.64 \pm 0.35^{\text{n.s.}}$
全 1 次胆汁酸	44.96 ± 13.17	$46.37 \pm 9.40^{\text{n.s.}}$
<u>2 次胆汁酸</u>		
デオキシコール酸	9.87 ± 5.46	$2.01 \pm 2.26^{**}$
リトコール酸	0.02 ± 0.05	$0.00 \pm 0.00^{\text{n.s.}}$
ヒオデオキシコール酸	0.65 ± 0.36	$0.49 \pm 0.14^{\text{n.s.}}$
全 2 次胆汁酸	10.54 ± 5.29	$2.51 \pm 2.18^{**}$

(注) スチューデント t-検定

** 有意水準 5 %

n.s. 有意な差なし

【 0 0 6 3 】

【表 19】

糞便中の胆汁酸の組成 [%]		
	高胆汁酸食	菌体内容物添加高胆汁酸食
<u>1 次胆汁酸</u>		
α -ミュリコール酸	16.01 \pm 4.33	13.75 \pm 1.82 ^{n.s.}
β -ミュリコール酸	12.39 \pm 3.19	17.30 \pm 3.29 ^{**}
ヒオコール酸	0.34 \pm 0.20	0.51 \pm 0.09 ^{n.s.}
コール酸	51.04 \pm 10.63	62.47 \pm 6.95 ^{**}
ケノデオキシコール酸	0.76 \pm 0.34	1.27 \pm 0.56 ^{n.s.}
全 1 次胆汁酸	79.82 \pm 8.31	94.02 \pm 3.61 ^{**}
<u>2 次胆汁酸</u>		
デオキシコール酸	18.29 \pm 8.90	3.64 \pm 3.76 ^{**}
リトコール酸	0.04 \pm 0.11	0.00 \pm 0.00 ^{n.s.}
ヒオデオキシコール酸	1.13 \pm 0.38	1.07 \pm 0.44 ^{n.s.}
全 2 次胆汁酸	20.18 \pm 8.31	5.98 \pm 3.61 ^{**}

(注) スチューデントt-検定

** 有意水準 5 %

n.s. 有意な差なし

【0064】

盲腸内の全短鎖脂肪酸量及び pH は、高胆汁酸食群が 54.0 mM、pH 6.65 であったのに対し、酵母菌体内容物添加高胆汁酸食群では、68.3 mM (有意水準 5%)、pH 6.46 (有意水準 5%) であった。よって、酵母菌体内容物は、短鎖脂肪酸量を増大させることによって大腸管腔内を酸性化し、腸内細菌の 7 α -脱水酸化酵素の活性を低下させる作用を有していた。

【0065】

【表 2 0】

盲腸内の pH 及び短鎖脂肪酸含量		
	高胆汁酸食	菌体内容物添加高胆汁酸食
盲腸内 pH	6.65±0.08	6.46±0.20 ^a
短鎖脂肪酸含量 [mM]		
酢酸	26.2±9.0	30.2±7.1 ^{n.s.}
プロピオン酸	7.2±2.5	14.3±2.2 ^{**}
酪酸	2.2±1.5	2.1±0.9 ^{n.s.}
乳酸	2.4±1.0	1.9±1.2 ^{n.s.}
コハク酸	14.3±7.1	17.8±6.4 ^{n.s.}
ギ酸	0.9±0.3	1.8±1.7 ^{n.s.}
イソ酪酸	0.7±0.7	0.2±0.2 ^{n.s.}
全短鎖脂肪酸	54.0±15.9	68.3±13.9 ^a

(注) スチューデント t-検定

** 有意水準 5 %

* 有意水準 1 %

n. s. 有意な差なし

【0 0 6 6】

イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の菌体内容物の投与によって、コレステロールの腸内代謝産物であるコプロスタノールやコプロスタノンの糞便中濃度が有意に低下した。このことから、イサチェンキア オリエンタリス Y I T 8 2 6 6 の菌体内容物は、凍結乾燥菌体と同様、コレステロール代謝産物の産生を抑制することによっても種々の疾病の予防や治療に寄与し得る。

【0 0 6 7】

【表 2 1】

糞便中の中性ステロールの組成 [%]		
	高胆汁酸食	菌体内容物添加高胆汁酸食
コプロスタノール	21.1±8.2	10.0±9.9*
コプロスタノン	2.0±1.6	0.5±0.5**
コレステロール	76.9±9.6	89.6±10.2*
コプロスタノール+コプロスタノン	23.1±9.6	12.1±10.7*

(注) スチューデントt-検定

** 有意水準 5 %

* 有意水準 1 %

【 0 0 6 8 】

実施例 5

実施例 1 及び 2 で使用した各種酵母菌体を用いて、次の組成の飲食品を製造した。

1) 健康向け食品 (錠剤)

次の添加物を含有する組成物を打錠し、錠剤とした。

【 0 0 6 9 】

【表 2 2】

健康向け食品の組成 [%]	
酵母菌体の乾燥物	10
植物抽出末	30
ローヤルゼリー粉末	5
コラーゲン末	5
乳 糖	25
トウモロコシデンプン	20
ヒドロキシプロピルセルロース	4
ステアリン酸マグネシウム	1

【 0 0 7 0 】

2) 健康向け飲料

次の処方により健康飲料を製造した。

【 0 0 7 1 】

【表 2 3】

健康向け飲料の組成 [%]	
酵母菌体の乾燥物	5
ハチミツ	15
クエン酸	0.1
dl-リンゴ酸	0.1
植物抽出末 (シナモン)	20
D-ソルビトール液 (70%)	10
安息香酸ナトリウム	0.05
香 料	適 量
精製水	100とする残余

【 0 0 7 2 】

3) 果汁飲料

次の処方により果汁飲料を製造した。

【 0 0 7 3 】

【表 2 4】

果汁飲料の組成 [%]	
ブドウ糖液糖	33
グレープフルーツ果汁	60
酵母菌体の乾燥物	5
香 料	適 量
酸味料	適 量

【 0 0 7 4 】

4) 発酵乳

次の処方により加熱酵母菌体入り発酵乳を製造した。

10%の脱脂粉乳と5%のグルコースを滅菌し、ラクトバチルス属細菌を植菌してヨーグルトを製造した。これに実施例1で得た加熱酵母菌体を0.1~20%混合し、発酵乳を製造した。

【 0 0 7 5 】

5) 乳酒

次の処方により乳酒を製造した。

10%の脱脂粉乳と5%のグルコースを滅菌し、ラクトバチルス属細菌を植菌すると同時に実施例1で得た酵母を植菌し、48時間37℃で静置培養して乳酒を製造した。

【 0 0 7 6 】

【発明の効果】

胆汁酸の吸着及び大腸管腔内の酸性化等を介して、2次胆汁酸の産生を強力に抑制し、本発明の2次胆汁酸産生抑制剤は、大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆管癌、胆石症などの予防及び治療に極めて有効なものである。

【 0 0 7 7 】

また、本発明に用いる酵母は、古くからチーズや馬乳酒、ワイン製造等に使用

されていることから明らかなように病原性のない安全な菌株である。実際に、酵母の本発明の2次胆汁酸産生抑制剤をラットに8 g/kg/dayで投与しても死亡例は認められず、長期間服用しても安全性には問題がない。

【 0 0 7 8 】

従って、本発明の2次胆汁酸産生抑制剤は、経口摂取する医薬として利用するほか、食品に混合して日常的に摂取させ、大腸癌、肝癌、膵臓癌、胆管癌、胆石症などの予防と健康増進に役立たせるのにも適した極めて有効なものである。

【書類名】 要約書

【要約】

【解決手段】 酵母を有効成分とする 2 次胆汁酸産生抑制剤。

【効果】 胆汁酸の吸着及び大腸管腔内の酸性化等を介して、2 次胆汁酸の産生を強力に抑制し、大腸癌、肝癌、胆石症等の予防及び治療に極めて有効である。長期間服用しても安全性に問題なく、経口摂取する医薬の他、食品に混合して日常的に摂取し健康増進に役立つ。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2000-066659
受付番号	50000287688
書類名	特許願
担当官	第三担当上席 0092
作成日	平成12年 3月13日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成12年 3月10日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006884]

1. 変更年月日	1990年 8月 3日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都港区東新橋1丁目1番19号
氏 名	株式会社ヤクルト本社

